8 月 August
2019, 62(8): 970 – 978
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.08.009

诱导水稻抗褐飞虱的化学激发子筛选

周鹏勇, 李承哲, 王昕珏, 傅文婕, 吴妤婷, 娄永根*

(浙江大学昆虫科学研究所, 杭州 310058)

摘要:【目的】化学激发子具有毒性低、不易产生抗药性等特点,因此开发基于化学激发子的害虫防控技术,能够降低农药的使用量,促进农业生产的可持续发展。本研究旨在筛选能够诱导水稻产生对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 抗性的化学激发子。【方法】将茉莉酸(JA)、茉莉酸甲酯(MeJA)、水杨酸(SA)、水杨酸甲酯(MeSA)、油菜素内酯(BR)、苯甲酸苄酯(BB)、独脚金内酯(SLs)、萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、草酸钠(SO)、硅酸钾(PS)和叶枯唑(Bis)12 种化合物以根吸或叶鞘涂抹处理水稻,测定这些化合物处理水稻后褐飞虱的卵孵化率和 24 h 总产卵量。【结果】12 种候选化合物中,仅茉莉酸甲酯、油菜素内酯和苯甲酸苄酯对褐飞虱卵孵化率和 24 h 总产卵量有显著影响。5 mg/L MeJA 根吸处理水稻使褐飞虱的卵孵化率显著降低(达 58.8%,降低了 20.1%),而 0.5 mg MeJA 叶鞘涂抹处理水稻同时降低了褐飞虱的卵孵化率(达 53.3%,降低了 35.4%)和 24 h 总产卵量(达 203.5 粒/株,降低了 15.6%),且其涂抹的浓度越高,褐飞虱的卵孵化率和 24 h 总产卵量越低。5 mg/L BR 根吸处理水稻可以显著降低褐飞虱的卵孵化率(达 59.5%,降低了 22.1%),但是不影响褐飞虱的 24 h 总产卵量;褐飞虱的卵孵化率随 BR 处理浓度增高而降低,其浓度为 20 mg/L 时,褐飞虱的卵孵化率下降了 41.8%。5 mg/L BB 根吸处理水稻可以显著降低褐飞虱的 24 h 总产卵量(达 100.3 粒/株,降低了 26.2%)。体外试验结果表明,MeJA 和 BR 处理对褐飞虱卵孵化率无明显影响,说明两者对褐飞虱卵无直接毒害作用。【结论】化合物茉莉酸甲酯、油菜素内酯和苯甲酸苄酯可以提高水稻对褐飞虱的抗性,其中茉莉酸甲酯和油菜素内酯具有化学激发子的作用。

关键词: 褐飞虱; 水稻; 化学激发子; 茉莉酸甲酯; 苯甲酸苄酯

中图分类号: Q968 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2019)08-0970-09

Screening of chemical elicitors inducing the resistance of rice to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)

ZHOU Peng-Yong, LI Cheng-Zhe, WANG Xin-Jue, FU Wen-Jie, WU Yu-Ting, LOU Yong-Gen*

(Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract:【Aim】Chemical elicitors have low toxicity to the environment and low frequency to induce pest resistance. Thus, exploiting strategies against pests based on chemical elicitors may largely decrease the application amount of pesticides, thereby promoting sustainable agriculture. This study aims to screen chemical elicitors that can induce the resistance of rice to the brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens*.【Methods】Rice plants were grown in nutrient solutions containing one of 12 candidate compounds, including jasmonic acid (JA), methyl jasmonate (MeJA), salicylic acid (SA), methyl salicylate (MeSA), brassinolide (BR), benzyl benzoate (BB), strigolactones (SLs), 1-naphthylacetic acid (NAA), 3-indolybutyric acid (IBA), sodium oxalate (SO), potassium silicate (PS), and bismerthiazol (Bis), or smeared with one of these compounds on rice leaf sheathes, and then the egg

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201403030); 水稻产业技术体系(CARS-01-40)
作者简介: 周鹏勇, 男, 1991 年生, 浙江绍兴人, 博士研究生, 研究方向为昆虫化学与分子生态学, E-mail: zhoupy1991@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yglou@zju.edu.cn
收稿日期 Received: 2019-04-11; 接受日期 Accepted: 2019-05-20

hatching rate and the number of eggs laid in 24 h by female adults of BPH treated with these compounds were assayed. 【Results】Among the 12 candidate compounds, only MeJA, BR and BB had significant influence on the egg hatching rate of BPH and the number of eggs laid in 24 h. Rice plants grown in the nutrient solution containing 5 mg/L MeJA significantly reduced the egg hatching rate of BPH to 58.8% (decreased by 20.1%), whereas application of MeJA (0.5 mg per plant) on rice leaf sheathes significantly reduced both the egg hatching rate of BPH to 53.3% (decreased by 35.4%) and the number of eggs laid in 24 h to 203.5 per plant (decreased by 15.6%). Moreover, the higher the concentration of MeJA used, the lower the egg hatching rate of BPH and the number of eggs laid in 24 h. Rice plants grown in the nutrient solution containing 5 mg/L BR decreased the egg hatching rate of BPH to 59.5% (decreased by 22.1%), but had no effect on the number of eggs laid in 24 h. The egg hatching rate of BPH was negatively correlated with the concentration of BR, and the egg hatching rate of BPH on rice plants grown in the nutrient solution containing 20 mg/L BR was decreased by 41.8% as compared to that on the control plants. Besides, the number of eggs laid in 24 h on rice plants grown in the nutrient solution containing 5 mg/L BB significantly reduced to 100.3 per plant (decreased by 26.2%). *In vitro* bioassay showed that MeJA and BR had no significant influence on the hatching rate of BPH eggs, suggesting that both have no direct toxicity to BPH eggs. 【Conclusion】These results demonstrate that MeJA, BR and BB can improve the resistance of rice to BPH, among which MeJA and BR function as chemical elicitors.

Key words: *Nilaparvata lugens*; rice; chemical elicitors; methyl jasmonate; brassinolide

植物利用组成型防御和诱导型防御来抵御植食性昆虫的为害，其中诱导型防御具有广谱性、持久性等特点，在植物防御反应中发挥着非常重要的作用（Howe and Jander, 2008; Schuman and Baldwin, 2016）。植物的诱导抗性可以通过识别植食性昆虫相关的化学信号，从而调节茉莉酸（jasmonic acid, JA）、水杨酸（salicylic acid, SA）、茉莉酸异亮氨酸（jasmonoy-isoleucine, JA-Ile）、油菜素内酯（brassinosteroids, BR）、过氧化氢（hydrogen peroxide, H_2O_2）等信号途径（Wu and Baldwin, 2010; Erb *et al.*, 2012）。这些信号途径的改变会引起植物体内转录组、蛋白组、代谢组的改变，最终产生防御相关的代谢产物达到抗虫效果（Howe and Jander, 2008; Wu and Baldwin, 2010）。

化学激发子在植物的诱导防御反应中发挥着重要作用。化学激发子是指本身对病原菌和昆虫没有直接的毒害作用，但是可以特异性地诱导植物的防御反应，从而增加对病原菌和昆虫抗性的一类化合物（Thakur and Sohal, 2013; 莫晓畅和娄永根, 2016）。迄今为止，在植物与病原菌互作研究中已鉴定出大量的化学激发子，如植物激发子多肽（Ziemann *et al.*, 2018）、壳聚糖（Ramkissoon *et al.*, 2016）、叶枯唑（bismerthiazol, Bis）（Liang, *et al.*, 2018）、硅（Rémus-Borel *et al.*, 2005; Rahman *et al.*, 2015）等，且在此基础上已开发了多个商品化应用的化学激发子（Thakur and Sohal, 2013）。在植物与植食性昆虫的互作中，也已鉴定了一批诱导植物抗虫性的化学激发子，主要包括植食性昆虫相关分子模式（昆虫的口腔和产卵分泌物中的激发子）、植物激素及其类似物、植物激发子多肽[如系统素（systemin）]、无机化合物铜和硅等（Huffaker, 2015; Lou *et al.*, 2015）。但与诱导植物抗病性的化学激发子相比，至今尚无商品化的诱导植物抗虫性的化学激发子。

植物激素在植物诱导防御反应中发挥重要作用。其中信号分子 SA 和 JA 研究较广泛。SA 和它的衍生物水杨酸甲酯（methyl salicylic acid, MeSA）可以改变吸引害虫天敌挥发物的成分从而增加对植食性昆虫的抗性（严善春等, 2007; Filgueiras *et al.*, 2016），外施 SA 可以提高水稻中胰蛋白酶抑制剂的含量，增加水稻对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 的抗性（Wang *et al*, 2011）。JA 和它的衍生物茉莉酸甲酯（methyl jasmonate, MeJA）可以激活植物体内的多酚氧化酶、胰蛋白酶抑制剂和吸引害虫天敌的挥发物等物质来增强植物对植食性昆虫的抗性（Thaler *et al.*, 1996, 1999; Lou *et al.*, 2005; Pauwels *et al.*, 2007）。独脚金内酯（strigolactones, SLs）可以通过改变番茄植物体内 JA, SA 和脱落酸

(abscisic acid, ABA)的含量,增强对葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 和链孢菌 *Alternaria alternata* 的抗性(Torres-Vera *et al*., 2014)。生长素类似物 2,4-D 可以通过改变 JA 信号途径来增加对二化螟 *Chilo suppressalis* 的抗性(Xin *et al*., 2012)。BR 可以通过改变植物体内 JA 信号途径、活性氧含量、胰蛋白酶抑制剂含量等来增加对植食性昆虫的抗性(Peng *et al*., 2011; Erb *et al*., 2012; Song *et al*., 2018)。

除此之外,仍有些常见的化学激发子可用于增强植物对昆虫的抗性。如草酸可以抑制褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 取食水稻(吴碧球等, 2016)。高含量的硅可以增强水稻对褐飞虱的抗性(He *et al*., 2015)。叶枯唑可以诱导水稻产生 JA 来增加对白背飞虱 *Sogatella furcifera* 的抗性(Zhou *et al*., 2018)。苯甲酸苄酯(benzyl benzoate, BB)在水稻对白背飞虱抗性中发挥着重要的作用(Seino *et al*., 1996)。

水稻 *Oryza sativa* 是世界上最重要的粮食作物之一,褐飞虱作为水稻的主要害虫,对水稻的生产造成严重危害。目前生产上控制褐飞虱的危害主要依靠化学农药,但长期使用也会带来农药残留、食品污染等问题,且造成害虫抗药性增加,进而导致害虫的再猖獗。植物诱导抗性是植物抵御害虫为害的一个重要方面,具有广谱性和持久性。研究发现,植物的诱导抗虫性可被化学激发子激活,进而激活植物体内 JA, SA, BR 和 H_2O_2 等相关的信号途径,最终产生针对植食性昆虫的防御反应(Howe and Jander, 2008; Xin *et al*., 2012; Hu *et al*., 2015; Zhang *et al*., 2017)。目前利用化学激发子防治褐飞虱的研究还鲜有报道,本研究以褐飞虱的产卵量和卵孵化率为指标,将文献中报道的能够诱导植物防御反应的一些化学激发子进行水稻根吸或叶鞘涂抹处理,以期筛选出能够降低褐飞虱产卵量或卵孵化率的化学激发子,为更有效地防控褐飞虱提供科学依据,也为开展褐飞虱田间防控奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试水稻:试验用水稻品种为秀水 110 (XS110)。水稻的种子在控温培养箱(温度 28℃, 光周期 12L∶12D)内用清水浸泡 24 h 后,控水催芽 10 d(幼苗生长高度约 6~7 cm),转移至人工气候室(温度 28±2℃,光周期 14L∶10D, 相对湿度 70%~80%)中的营养液(Yoshida *et al*., 1976)中继续培养,此期间营养液每隔 2 周更换一次。30 d 后将单株水稻转移到盛有营养液的 320 mL 塑料杯(直径×高=8 cm×10 cm)中,恢复生长 3 d 后用于试验。

1.1.2 供试褐飞虱:褐飞虱来自于浙江大学紫金港校区实验农场,在人工气候室(温度 28±2℃,光周期 12L∶12D, 相对湿度 50%~60%)用 TN1 水稻幼苗进行饲喂、繁殖。试验所需用虫为怀卵雌成虫,即:将初羽化后的雌成虫和雄成虫转移至新的养虫笼,饲养 3 d 后选雌成虫作为试验用虫。

1.1.3 供试化合物:供试化合物信息见表 1。

表 1 试验所用化合物

Table 1 Compounds used in the assays

化合物 Compounds	纯度(%) Purity	生产厂家 Manufacturers
茉莉酸 Jasmonic acid	>97.0	Sigma-Aldrich
茉莉酸甲酯 Methyl jasmonate	>95.0	Sigma-Aldrich
水杨酸 Salicylic acid	>99.0	Sigma-Aldrich
水杨酸甲酯 Methyl salicylate	>99.0	Sigma-Aldrich
独脚金内酯 Strigolactones	>98.0	Solarbio
油菜素内酯 Brassinolide	>90.0	Aladdin
萘乙酸 1-Naphthylacetic acid	>96.0	Aladdin
吲哚丁酸 3-Indolybutyric acid	>98.0	Aladdin
草酸钠 Sodium oxalate	>99.8	SCR
硅酸钾 Potassium silicate	>98.0	Aladdin
苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	>99.0	Aladdin
叶枯唑 Bismerthiazol	>95.0	浙江龙湾化工有限公司 Zhejiang Longwan Chemicals

1.2 化学激发子处理水稻

1.2.1 根吸处理:将化学激发子溶解在无水乙醇中形成母液,再将化学激发子的母液溶于水稻营养液中,根据需要配制成不同浓度的化学激发子溶液。以加入等量乙醇的营养液(浓度 200 μL/L)作为对照。用不同浓度的化学激发子或乙醇溶液根吸处理水稻 12 h 后再进行褐飞虱卵孵化率试验。各处理重复 8 次。

1.2.2 叶鞘涂抹处理:取羊毛脂(lanolin)(Sigma-Aldrich)在 70℃水浴锅中充分融化后,在羊毛脂中加入 MeJA,配制 4 种浓度的 MeJA(125, 25, 5 和 0.5 μg/μL)。取 20 μL MeJA 均匀涂抹在距水稻基部 10 cm 处的叶鞘上,对照组在同样位置涂抹20 μL 羊毛脂(Hu *et al*., 2015)。涂抹处理 12 h 后再进行体外生测,检测化合物对褐飞虱卵孵化率的影响。各处理重复 8 次。

1.3 褐飞虱卵孵化率和 24 h 总产卵量测定

在每株水稻叶鞘的底部套上一个圆柱形的玻璃

罩(直径×高 =4 cm×10 cm,筒壁均匀分布48 个直径为0.8 mm 的圆孔),在玻璃罩内接入 8 头褐飞虱怀卵雌成虫,玻璃罩的顶部用海绵封闭。褐飞虱产卵 24 h 后将其移走。待若虫孵出后每天统计其数量,直到不再有新的若虫孵出,剪下玻璃罩内的水稻茎秆,解剖镜下统计水稻叶鞘内未孵化的褐飞虱卵数量,最后计算出褐飞虱卵的孵化率〔孵化率 = 孵化的若虫数/(孵化若虫数 + 未孵化卵量)〕以及 24 h总产卵量。各处理重复 8 次。

1.4　化合物处理对褐飞虱卵孵化率影响的体外试验

为了排除化合物 MeJA 和 BR 对褐飞虱卵的直接毒害作用,褐飞虱在水稻上产卵 12 h 后,用镊子剖取水稻中的 30 粒褐飞虱卵放入一次性培养皿(直径×高 =8.5 cm×1.5 cm)中的灭菌滤纸(直径 8.5 cm)上。将配制好的 1 mL 浓度为 5 mg/L MeJA 和 BR 溶液分别滴加到滤纸上,充分湿润,用 Parafilm 膜密封培养皿。不加化合物的溶液相同处理作为对照组。将培养皿放于控温培养箱(温度 28℃,光周期 12L∶12D)中,待若虫孵出后每天20:00 时进行观察并记录孵出的若虫数直至无若虫孵出,计算褐飞虱卵的孵化率。各处理重复 5 次。

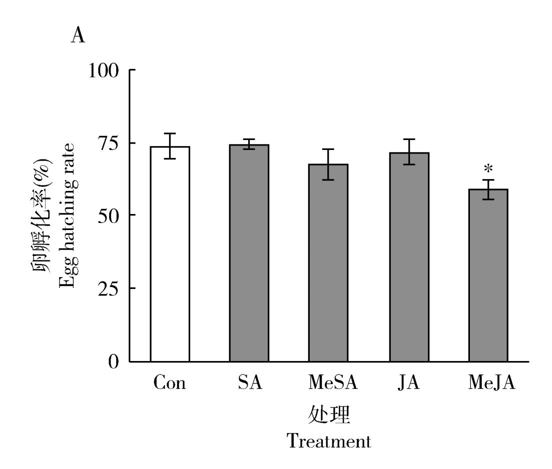
1.5　数据分析

试验数据用 SPSS 18.0 软件进行分析,化合物处理与对照处理后褐飞虱卵的孵化率和 24 h 总产卵量的比较采用 Student 氏 t 检验;同种化合物的不同浓度处理后褐飞虱卵的孵化率和产卵量的比较采用 one-way ANOVA 和 Duncan 氏多重比较。

2　结果

2.1　根吸处理水稻对褐飞虱的影响

2.1.1　植物激素处理对褐飞虱卵孵化率及 24 h 总产卵量的影响：浓度为 5 mg/L 的 SA，MeSA，JA 和 MeJA 对水稻进行根吸处理的结果表明,SA，MeSA 和 JA 根吸处理水稻后不影响褐飞虱的卵孵化率及 24 h 总产卵量($P>0.05$)(图 1：A 和 B)。但经过 MeJA 根吸处理后,水稻中褐飞虱卵的孵化率下降了 20.1%,且与对照组相比有显著差异($P=0.016$)(图 1：A),MeJA 根吸处理水稻不影响褐飞虱 24 h 总产卵量($P>0.05$)(图 1：B)。



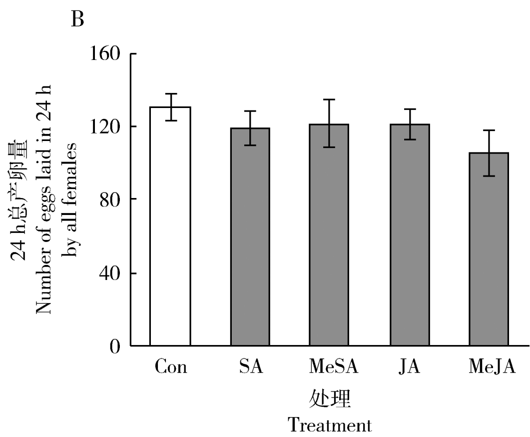


图 1　SA，MeSA，JA 和 MeJA 根吸处理水稻对褐飞虱卵孵化率(A)及 24 h 总产卵量(B)的影响

Fig. 1　Influence of rice plants grown in nutrient solutions containing SA, MeSA, JA and MeJA on the egg hatching rate (A) and the number of eggs laid in 24 h by female adults (B) of *Nilaparvata lugens*

Con：不经过化合物处理 Not subjected to chemical treatment (CK)；SA：5 mg/L 水杨酸处理 Treatment with 5 mg/L salicylic acid；MeSA：5 mg/L 水杨酸甲酯处理 Treatment with 5 mg/L methyl salicylate；JA：5 mg/L 茉莉酸处理 Treatment with 5 mg/L jasmonic acid；MeJA：5 mg/L 茉莉酸甲酯处理 Treatment with 5 mg/L methyl jasmonate. 图中数据为 8 次重复的平均值 ± 标准误,每重复含 8 头雌成虫。柱上星号表示处理组与对照组存在显著差异($P<0.05$, Student 氏 t 检验),没有星号表示处理组与对照组不存在显著差异($P>0.05$, Student 氏 t 检验)。图3 和5 同。Data are mean ± *SE* of 8 replicates, each replicate with 8 female adults. Asterisk above a bar indicates significant difference between the treatment group and the control group ($P<0.05$, Student's t-test), and no asterisk indicates no significant difference between the treatment group and the control group ($P>0.05$, Student's t-test). The same for Figs. 3 and 5.

浓度为 5 mg/L 的独脚金内酯(strigolactones, SLs)、油菜素内酯(brassinolide, BR)、萘乙酸(1-naphthylacetic acid, NAA)、吲哚丁酸(3-indolybutyric acid, IBA)等植物激素对水稻根吸处理的结果表明,SLs, NAA 和 IBA 根吸处理水稻不影响褐飞虱的卵孵化率以及雌虫 24 h 总产卵量($P>0.05$)(图 2：A 和 B)。但经过 BR 根吸处理后,水稻中褐飞虱卵的孵化率下降了 22.1%,且与对照组相比有显著差异($P=0.024$)(图 2：A)。BR 根吸处理水稻不影响褐飞虱雌虫的 24 h 总产卵量($P>0.05$)(图 2：

B)。

进一步用不同浓度的 BR 对褐飞虱进行根吸处理,结果表明 0.1 ~5 mg/L BR 处理水稻,褐飞虱的卵孵化率不随 BR 的浓度改变而产生显著差异(P>0.05);但是当 20 mg/L BR 处理水稻后褐飞虱卵的孵化率与 5 mg/L BR 处理相比显著下降了 20.5%(P<0.05)。另外,1, 5 和 20 mg/L BR 根吸处理水稻,水稻中褐飞虱的卵孵化率与对照组相比分别下降了 25.7%, 25.3% 和 41.8%,且具有显著差异(P<0.05)(图 2: C)。但不同浓度 BR 根吸处理水稻与对照组相比均没有显著影响褐飞虱 24 h 总产卵量(P>0.05)(图 2: D)。

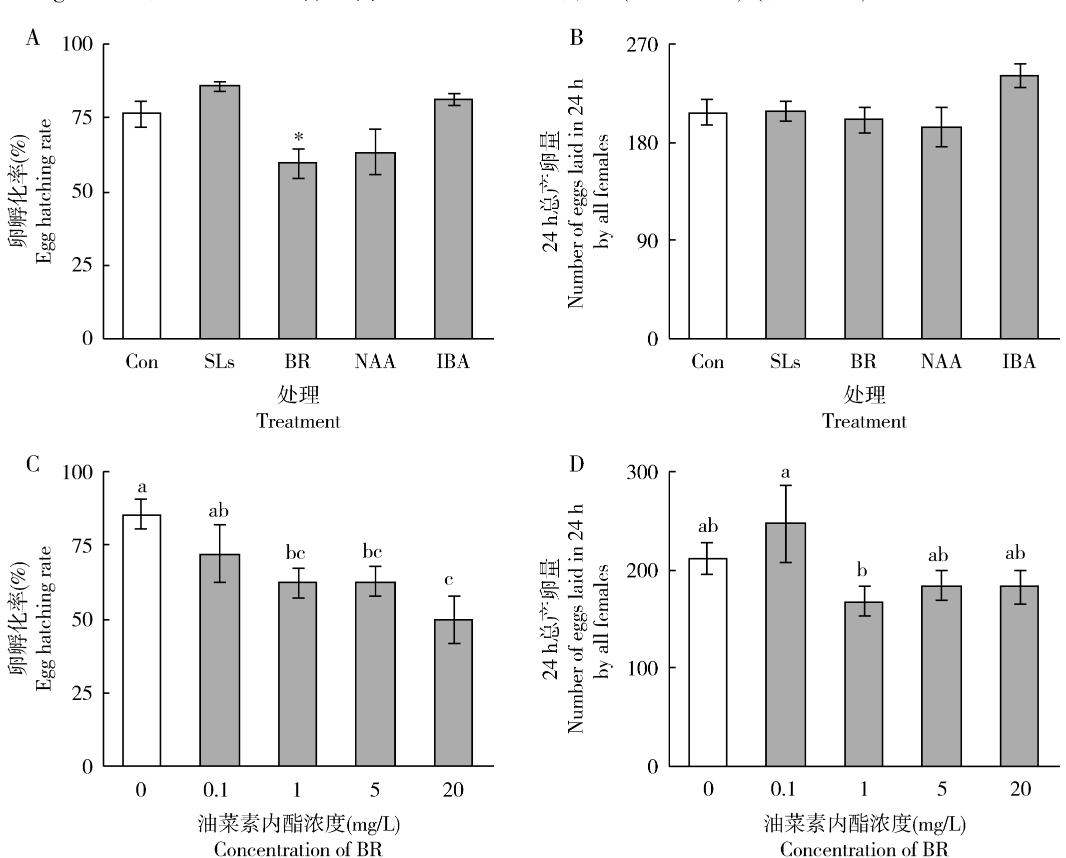


图 2 植物激素根吸处理水稻对褐飞虱卵孵化率(A, C)及 24 h 总产卵量(B, D)的影响

Fig. 2 Influence of rice plants grown in nutrient solutions containing plant hormones on the egg hatching rate (A, C) and the number of eggs laid in 24 h by female adults (B, D) of *Nilaparvata lugens*

Con: 不经过化合物处理 Not subjected to chemical treatment (CK); SLs: 5 mg/L 独脚金内酯处理 Treatment with 5 mg/L strigolactones; BR: 5 mg/L 油菜素内酯处理 Treatment with 5 mg/L brassinolide; NAA: 5 mg/L 萘乙酸处理 Treatment with 5 mg/L 1-naphthylacetic acid; IBA: 5 mg/L 吲哚丁酸处理 Treatment with 5 mg/L 3-indolybutyric acid. 图中数据为 8 次重复的平均值 ± 标准误,每重复 8 头雌成虫。柱上星号表示处理组与对照组存在显著差异(P<0.05)(Student 氏 t 检验),而没有星号表示处理组与对照组间不存在显著差异(P>0.05, Student 氏 t 检验); 柱上不同字母表示处理之间存在显著差异(P<0.05, Duncan 氏多重检验)。Data are mean ± *SE* of 8 replicates, each with 8 female adults. Asterisk above a bar indicates significant difference (P<0.05) between the treatment group and the control group (Student's t-test), while no asterisk indicates no significant differences between the treatment group and the control group (P>0.05, Student's t-test). Different letters above bars indicate significant difference among treatments (P<0.05, Duncan's multiple-range test).

2.1.2 候选化合物处理对褐飞虱卵孵化率及 24 h总产卵量的影响: 对文献报道的一些常见化学激发子作为候选化合物进行探究,浓度为 5 mg/L 的草酸钠(sodium oxalate, SO)、苯甲酸苄酯(benzyl benzoate, BB)、叶枯唑(bismerthiazol, Bis)和 2 mol/L 的硅酸钾(potassium silicate, PS)进行水稻的根吸处理结果表明,SO, PS 和 Bis 根吸处理水稻不会对褐飞虱的卵孵化率以及 24 h 总产卵量造成显著影响(P>0.05)(图 3: A 和 B),而 BB 可显著降低褐飞虱 24 h 总产卵量(P=0.033),与对照组相比下降了 26.2%(图 3: B),但不显著影响卵孵化率。

2.2 MeJA 叶鞘涂抹处理对褐飞虱的影响

将 0.5 mg MeJA(溶于 20 μL 羊毛脂)涂抹水稻叶鞘,对褐飞虱的卵孵化率以及 24 h 总产卵量的观察结果表明, MeJA 可以显著降低褐飞虱的卵孵化率(P=0.001)以及 24 h 总产卵量(P=0.029),与对照组相比分别下降了 35.4% 和 15.6%(图 4: A 和 B)。

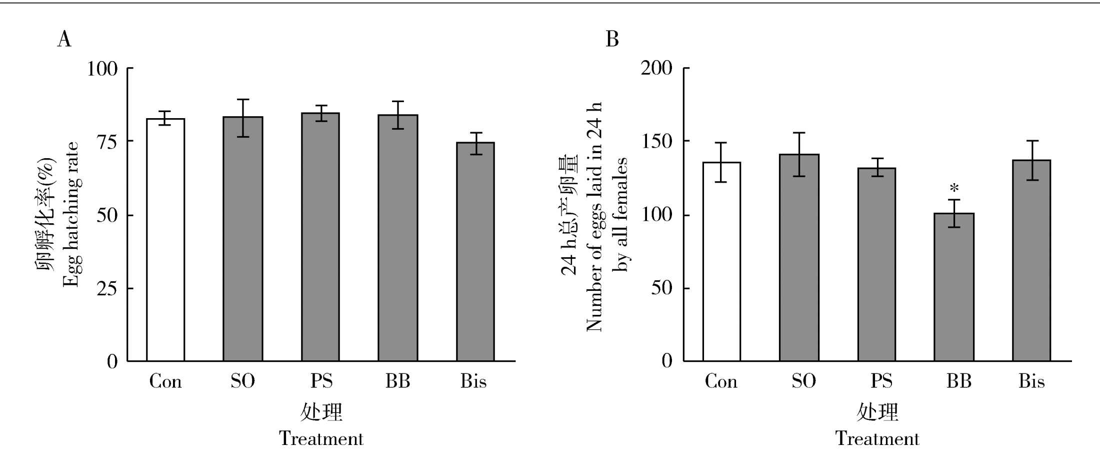


图 3　候选化合物根吸处理水稻对褐飞虱卵孵化率(A)及 24 h 总产卵量(B)的影响

Fig. 3　Influence of rice plants grown in nutrient solutions containing candidate chemicals on the egg hatching rate (A) and the number of eggs laid in 24 h by female adults (B) of *Nilaparvata lugens*

Con：不经过化合物处理 Not subjected to chemical treatment (CK)；SO：5 mg/L 草酸钠处理 Treatment with 5 mg/L sodium oxalate；PS：2 mol/L 硅酸钾处理 Treatment with 2 mol/L potassium silicate；BB：5 mg/L 苯甲酸苄酯处理 Treatment with 5 mg/L benzyl benzoate；Bis：5 mg/L 叶枯唑处理 Treatment with 5 mg/L bismerthiazol.

A
100
75
50
25
0
卵孵化率(%)
Egg hatching rate
*
Con MeJA
处理
Treatment

B
270
180
90
0
24 h总产卵量
Number of eggs laid in 24 h
by all females
*
Con MeJA
处理
Treatment

C
100
75
50
25
0
卵孵化率(%)
Egg hatching rate
a ab ab b c
0 0.01 0.1 0.5 2.5
茉莉酸甲酯浓度(mg/L)
Concentration of MeJA

D
240
180
120
60
0
24 h总产卵量
Number of eggs laid in 24 h
by all females
a ab ab b b
0 0.01 0.1 0.5 2.5
茉莉酸甲酯浓度(mg/L)
Concentration of MeJA

图 4　MeJA 涂抹水稻叶鞘对褐飞虱卵孵化率(A, C)及 24 h 总产卵量(B, D)的影响

Fig. 4　Influence of MeSA smeared on rice leaf shealths on the egg hatching rate (A, C) and the number of eggs laid in 24 h by female adults of *Nilaparvata lugens*

Con：不经过化合物处理 Not subjected to chemical treatment (CK)；MeJA：0.5 mg 茉莉酸甲酯涂抹处理 Treatment with 0.5 mg methyl jasmonate by smearing. 图中数据为 8 次重复的平均值 ± 标准误，每重复 8 头雌成虫。柱上星号表示处理组与对照组存在显著差异($P<0.05$)(Student 氏 t 检验)，不同字母表示处理之间存在显著差异($P<0.05$, Duncan 氏多重检验)。Data are mean ± *SE* of 8 replicates, each with 8 female adults. Asterisk above a bar indicates significant difference ($P<0.05$) between the treatment group and the control group (Student's *t*-test), while different letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$, Duncan's multiple-range test).

进一步探究不同浓度的 MeJA 对褐飞虱的卵孵化率以及产卵量的影响。结果表明,在涂抹 0.1 ~ 2.5 mg MeJA 时,褐飞虱的卵孵化率和 24 h 总产卵量随着 MeJA 浓度增加而显著降低。2.5 mg MeJA 涂抹处理能著降低褐飞虱卵的孵化率及 24 h 总产卵量,与对照组相比分别下降了 36.5% 和 25.6% ($P<0.05$)(图 4: C 和 D);0.5 mg MeJA 涂抹处理显著降低褐飞虱的卵孵化率以及 24 h 总产卵量($P<0.05$)(图 4: C 和 D);0.1 mg MeJA 涂抹时,则不会对褐飞虱的卵孵化率和 24 h 总产卵量产生显著影响($P>0.05$)(图 4: C 和 D)。

2.3 化合物体外处理对褐飞虱卵孵化率的影响

褐飞虱卵与化合物直接接触的体外试验结果表明,5 mg/L MeJA 和 BR 处理后不影响褐飞虱卵的孵化率($P>0.05$),说明 MeJA 和 BR 没有直接毒害褐飞虱卵的作用(图 5)。

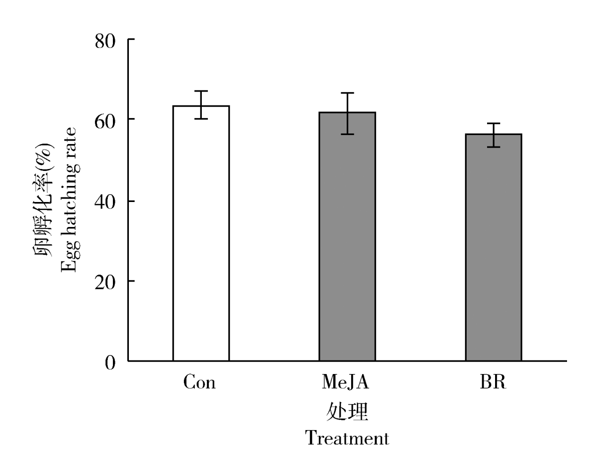


图 5 MeJA 和 BR 体外处理对褐飞虱卵孵化率的影响

Fig. 5 Influence of MeJA and BR on the egg hatching rate of *Nilaparvata lugens in vitro*

Con: 不经过化合物处理 Not subjected to chemical treatment (CK); MeJA: 5 mg/L 茉莉酸甲酯处理 Treatment with 5 mg/L methyl jasmonate; BR: 5 mg/L 油菜素内酯处理 Treatment with 5 mg/L brassinolide.

3 讨论

本研究成功筛选出 3 种化合物(MeJA, BR 和 BB)可显著降低褐飞虱的卵孵化率或产卵量。化合物 MeJA 和 BR 根吸处理水稻可以显著降低水稻中褐飞虱卵的孵化率(图 1 和 2),BB 根吸处理水稻可以显著降低水稻中褐飞虱的产卵量(图 3),MeJA 叶鞘涂抹处理水稻可以降低水稻中褐飞虱卵的孵化率和产卵量(图 4),并且 MeJA 和 BR 没有直接毒害褐飞虱卵的作用(图 5)。可以认为,MeJA, BR 和 BB 可以提高水稻对褐飞虱的抗性,并且 MeJA 和 BR 具有化学激发子的作用。

JA 和 MeJA 属于茉莉酸类化合物,在植物的诱导防御反应中发挥着重要的作用(Wu and Baldwin, 2010; Erb *et al*., 2012)。例如,MeJA 处理番茄种子可以提高番茄叶片中多酚氧化酶的活性,增加对美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 若虫的抗性(Paudel *et al*., 2014)。在水稻中,JA 可以通过诱导胰蛋白酶抑制剂等的合成,提高水稻对二化螟和稻纵卷叶螟的抗性(Zhou *et al*., 2009);外施 MeJA 可以诱导水稻中酚类化合物的生物合成,从而增加对褐飞虱的抗性(吴莹莹等, 2012)。在本研究中,我们发现 JA 根吸处理并不影响褐飞虱的卵孵化率,而 MeJA 根吸处理可以降低水稻中褐飞虱卵的孵化率(图 1)。同时,也发现 MeJA 涂抹水稻叶鞘显著降低褐飞虱卵的孵化率(降低了 35.4%)及24 h总产卵量(降低了 15.6%),而 MeJA 根吸处理水稻仅显著降低褐飞虱卵的孵化率(降低了 20.1%),并且前者的用量还小于后者[涂抹和根吸分别为 0.5 mg 和 1.6 mg (5 mg/L, 320 mL)]。这表明,MeJA 比 JA 具有更强的诱导活性,并且 MeJA 叶鞘涂抹的效果又要好于根系吸收的效果。类似地,MeJA 比 JA 具有更强的诱导活性,在其他实验中也有发现。如 MeJA 处理落叶松能够比 JA 处理诱导更强烈的抗虫基因的表达(Men *et al*., 2013)。这可能主要与 MeJA 比 JA 更容易透过细胞膜,从而能在植物细胞内水解产生相对更高 JA 浓度,发挥更强的生物活性有关(Farmer and Ryan, 1990; Cheong and Choi, 2003)。MeJA 叶鞘涂抹与根吸处理虽然都可以诱导水稻产生系统抗性,但毫无疑问地叶鞘涂抹会诱导涂抹部位产生更强的局部防御反应;褐飞虱是在水稻叶鞘部位取食与产卵的。因此,这可能就是 MeJA 叶鞘涂抹处理效果要好于根系吸收的主要原因。

BR 根吸处理水稻可以显著降低水稻中褐飞虱的卵孵化率(图 2: A 和 B),并且 BR 浓度越高褐飞虱卵孵化率下降越明显(图 2: C 和 D)。同时,BR 不会对褐飞虱的卵产生直接毒害作用(图 5)。这说明 BR 可以通过激活水稻的防御反应而降低褐飞虱卵的孵化率。已有研究报道,BR 可以通过改变植物体内 JA 信号途径、活性氧含量、胰蛋白酶抑制剂含量等来增加对植食性昆虫的抗性(Peng *et al*., 2011; Erb *et al*., 2012; Song *et al*., 2018)。因此,在本研究中发现的 BR 处理降低褐飞虱卵孵化率,亦可能与 BR 能激活水稻中的这些相关防御反应有关。具

体的机理有待进一步深入研究。

苯甲酸苄酯根吸处理可以显著降低水稻中褐飞虱的产卵量，但是不影响褐飞虱卵的孵化率（图 3）。之前研究表明，BB 可以被白背飞虱产卵直接诱导，对白背飞虱的卵具有直接的毒害作用（Seino *et al.*, 1996）。BB 也可以通过提高茄子中苯丙氨酸裂解酶、过氧化物酶、多酚氧化酶活性，增加茄子对黄萎病的抗性（周宝利等，2010）。因此，BB 根吸处理水稻可能对褐飞虱产生直接抗性，或者诱导水稻提高苯丙氨酸裂解酶、过氧化物酶、多酚氧化酶等酶的活性，增加水稻对褐飞虱的抗性，从而降低了褐飞虱的产卵量。

综上所述，本研究发现 2 种化学激发子（MeJA 和 BR）处理水稻可显著降低褐飞虱卵的孵化率或雌虫产卵量，它们可能是通过影响水稻中 JA、活性氧等信号通路，进而诱导水稻积累酚类、胰蛋白酶抑制剂等防御化合物有关。化合物 BB 处理水稻可以降低褐飞虱的产卵量，但还不能确定 BB 的作用方式以及是否具有化学激发子的功能。本研究筛选出的化学激发子为开展褐飞虱田间防控奠定基础，其诱导水稻抗虫性的机理需要进一步的研究。

参考文献（References）

Cheong JJ, Choi YD, 2003. Methyl jasomonate as a vital substance in plants. *Trends Genet.*, 19(7): 409－413.

Erb M, Meldau S, Howe GA, 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends Plant Sci.*, 17(5): 250－259.

Farmer EE, Ryan CA, 1990. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87(19): 7713－7716.

Filgueiras CC, Willett DS, Junior AM, Pareja M, Borai FE, Dickson DW, Stelinski LL, Duncan LW, 2016. Stimulation of the salicylic acid pathway aboveground recruits entomopathogenic nematodes belowground. *PLoS ONE*, 11(5): e0154712.

He W, Yang M, Li Z, Qiu J, Liu F, Qu X, Qiu Y, Li R, 2015. High levels of silicon provided as a nutrient in hydroponic culture enhances rice plant resistance to brown planthopper. *Crop Prot.*, 67: 20－25.

Howe GA, Jander G, 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 41－66.

Hu L, Ye M, Li R, Zhang T, Zhou G, Wang Q, Lu J, Lou Y, 2015. The rice transcription factor WRKY53 suppresses herbivore-induced defenses by acting as a negative feedback modulator of map kinase activity. *Plant Physiol.*, 169(4): 2907－2921.

Huffaker A, 2015. Plant elicitor peptides in induced defense against insects. *Curr. Opin. Insect Sci.*, 9: 44－50.

Liang X, Yu X, Pan X, Wu J, Duan Y, Wang J, Zhou M, 2018. A thiadiazole reduces the virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by inhibiting the histidine utilization pathway and quorum sensing. *Mol. Plant Pathol.*, 19(1): 116－128.

Lou YG, Du MH, Turlings TCJ, Cheng JA, Shan WF, 2005. Exogenous application of jasmonic acid induces volatile emissions in rice and enhances parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. *J. Chem. Ecol.*, 31(9): 1985－2002.

Lou YG, Hu LF, Li JC, 2015. Herbivore-induced defenses in rice and their potential application in rice planthopper management. In: Heong KL, Cheng JA, Escalada MM eds. Rice Planthoppers: Ecology, Management, Socio Economics and Policy. Zhejiang University Press, Hangzhou. 95－115.

Men LN, Yan SC, Liu GJ, 2013. *De novo* characterization of *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. transcriptome and analysis of its gene expression induced by jasmonates. *BMC Genomics*, 14: 548.

Mo XC, Lou YG, 2016. Review of the use of naturally occurring, ecologically active chemicals to regulate insect pests in rice crops. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 53(3): 435－445.［莫晓畅，娄永根，2016. 水稻害虫化学生态调控研究进展. 应用昆虫学报，53(3): 435－445］

Paudel S, Rajotte EG, Felton GW, 2014. Benefits and costs of tomato seed treatment with plant defense elicitors for insect resistance. *Arthropod-Plant Inte.*, 8(6): 539－545.

Pauwels L, Morreel K, Witte ED, Lammertyn F, Montagu MV, Boerjan W, Inzé D, Goossens A, 2007. Mapping methyl jasmonate-mediated transcriptional reprogramming of metabolism and cell cycle progression in cultured *Arabidopsis* cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(4): 1380－1385.

Peng Z, Han C, Yuan L, Zhang K, Huang H, Ren C, 2011. Brassinosteroid enhances jasmonate-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedlings. *J. Integr. Plant Biol.*, 53(8): 632－640.

Rahman A, Wallis CM, Uddin W, 2015. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. *Phytopathology*, 105(6): 748－757.

Ramkissoon A, Francis J, Bowrin V, Ramjegathesh R, Ramsubhag A, Jayaraman J, 2016. Bio-efficacy of a chitosan based elicitor on *Alternaria solani* and *Xanthomonas vesicatoria* infections in tomato under tropical conditions. *Ann. Appl. Biol.*, 169(2): 274－283.

Rémus-Borel W, Menzies JG, Bélanger RR, 2005. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 66(3): 108－115.

Schuman MC, Baldwin IT, 2016. The layers of plant responses to insect herbivores. *Annu. Rev. Entomol.*, 61: 373－394.

Seino Y, Suzuki Y, Sogawa K, 1996. An ovicidal substance produced by rice plants in response to oviposition by the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horváth) (Homoptera: Delphacidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 31(4): 467－473.

Song LX, Xu XC, Wang FN, Wang Y, Xia XJ, Shi K, Zhou YH, Zhou J, Yu JQ, 2018. Brassinosteroids act as a positive regulator for resistance against root-knot nematode involving respiratory burst oxidase homolog-dependent activation of MAPKs in tomato. *Plant*

Cell Environ., 41(5): 1113 - 1125.

Thakur M, Sohal BS, 2013. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *ISRN Biochem*., 2013: 762412.

Thaler JS, Fidantsef AL, Duffey SS, Bostock RM, 1999. Trade-offs in plant defense against pathogens and herbivores: a field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. *J. Chem. Ecol*., 25(7): 1597 - 1609.

Thaler JS, Stout MJ, Karban R, Duffey SS, 1996. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. *J. Chem. Ecol*., 22(10): 1767 - 1781.

Torres-Vera R, Garcia JM, Pozo MJ, Lopez-Raez JA, 2014. Do strigolactones contribute to plant defence? *Mol. Plant Pathol*., 15 (2): 211 - 216.

Wang X, Hu LF, Zhou GX, Cheng JA, Lou YG, 2011. Salicylic acid and ethylene signaling pathways are involved in production of rice trypsin proteinase inhibitors induced by the leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée). *Chin. Sci. Bull*., 56 (22): 2351 - 2358.

Wu BQ, Huang SS, Li C, Sun ZX, Zhou JL, Ling Y, Jiang XB, Huang Q, Long LP, Huang FK, 2016. Effect of environmental factors on secondary substances of rice planting and relationship with resistance to brown planthopper (Homoptera: Delphacidae). *Southwest China J. Agric. Sci*., 29(10): 2371 - 2378. [吴碧球, 黄所生, 李成, 孙祖雄, 周君雷, 凌炎, 蒋显斌, 黄芊, 龙丽萍, 黄凤宽, 2010. 环境因素对水稻次生物质的影响以其与抗褐飞虱关系. 西南农业学报, 29(10): 2371 - 2378]

Wu J, Baldwin IT, 2010. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annu. Rev. Genet*., 44: 1 - 24.

Wu YY, Wu BQ, Chen Y, Huang SS, Huang FH, 2012. Relations between resistance of rice induced by methyl jasmonate, brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*) and total phenol content. *Southwest China J. Agric. Sci*., 25(2): 462 - 466. [吴莹莹, 吴碧球, 陈燕, 黄所生, 黄凤宽, 2012. 茉莉酸甲酯诱导水稻对褐飞虱抗性与植物总酚含量的关系研究. 西南农业学报, 25(2): 462 - 466]

Xin Z, Yu Z, Erb M, Turlings TCJ, Wang B, Qi J, Liu S, Lou Y, 2012. The broad-leaf herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid turns rice into a living trap for a major insect pest and a parasitic wasp. *New Phytol*., 194(2): 498 - 510.

Yan SC, Xu W, Yuan HE, Wang Q, Lu D, 2007. Effects of different elicitors on olfactory response and oviposition selection of *Dendrolimus superans* (Butler). *Chin. J. Appl. Entomol*., 18(7): 1583 - 1588. [严善春, 徐伟, 袁红娥, 王琪, 卢丹, 2007. 不同诱导因子对落叶松毛虫嗅觉和产卵选择的影响. 应用生态学报, 18(7): 1583 - 1588]

Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA, 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 3rd ed. The International Rice Research Institute, Manila. 7 - 83.

Zhang J, Luo T, Wang WW, Cao TT, Li R, Lou YG, 2017. Silencing *OsSLR*1 enhances the resistance of rice to the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Plant Cell Environ*., 40(10): 2147 - 2159.

Zhou BL, Jia Q, Liu N, Ye XL, Hu JF, 2010. Allelopathy of benzyl benzoate to verticllium wilt (*Verticillium dahliae*) and the growth of eggplant seedling. *J. Northwest A&F Univ.* (*Nat. Sci. Ed.*), 38 (2): 135 - 139, 146. [周宝利, 贾倩, 刘娜, 叶雪凌, 胡俊峰, 2010. 苯甲酸苄酯对茄子黄萎病及幼苗生长的化感效应. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 38(2): 135 - 139, 146]

Zhou GX, Qi JF, Ren N, Cheng JA, Erb M, Mao B, Lou YG, 2009. Silencing *OsHI-LOX* makes rice more susceptible to chewing herbivores, but enhances resistance to a phloem feeder. *Plant J*., 60 (4): 638 - 648.

Zhou PY, Mo XC, Wang WW, Chen X, Lou YG, 2018. The commonly used bactericide bismerthiazol promotes rice defenses against herbivores. *Int. J. Mol. Sci*., 19(5): 1271.

Ziemann S, van der Linde K, Lahrmann U, Acar B, Kaschani F, Colby T, Kaiser M, Ding Y, Schmelz E, Huffaker A, Holton N, Zipfel C, Doehlemann G, 2018. An apoplastic peptide activates salicylic acid signalling in maize. *Nat. Plants*, 4(3): 172 - 180.

(责任编辑: 赵利辉)